

Die akute Lichtentzündung an der Rückenhaut der
weißen Maus und ihre Beeinflussung durch einen
Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten.

Vorgelegt von
Reinhold Wünnstel

1972

Das Verzeichniß der Abtheilung der Naturwissenschaften

Neun

Leipzig, P. Neumann, Neudruck

Die Abtheilung der Naturwissenschaften der Universität zu
Leipzig hat die Ehre, dem Herrn Dr. phil. phil. phil. phil. phil.
phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Die Abtheilung der Naturwissenschaften der Universität zu
Leipzig hat die Ehre, dem Herrn Dr. phil. phil. phil. phil. phil.
phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil. phil.

Leipzig, P. Neumann, Neudruck

Leipzig, P. Neumann, Neudruck

Leipzig, P. Neumann, Neudruck

Neun

Aus der Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

Direktor: Prof.Dr.G.W.Korting

Die akute Lichtentzündung an der Rückenhaut der
weißen Maus und ihre Beeinflussung durch einen
Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

Vorgelegt von
Reinhold Wünstel
aus Wiesbaden

Mainz 1969



Dekan: Professor Dr. Dr. W. Ketterl

Referent: Professor Dr. G.W. Korting

Tag der mündlichen

Prüfung: 18.1.1972

Meinen Eltern gewidmet

I.	Problemstellung.....	1
II.	Geschichtlicher Rückblick.....	2
III.	Photodynamische Wirkung des Lichtes.....	2
IV.	Experimentelle Untersuchungen	
1.	Theoretische Voraussetzungen	
1.1.	Erythemschwellenbestimmung.....	4
1.2.	Bestimmung der optimalen Bestrah- lungsdauer zur Erzeugung einer Hautnekrose.....	5
1.3.	Hauptversuch.....	6
2.	Material und Methode	
2.1.	Versuchstiere.....	6
2.1.1.	Voraussetzungen der Tierhaltung...	6
2.1.2.	Vorbereitung der Tiere zum Versuch	
2.1.2.1.	Haarentfernung.....	6
2.2.	Strahlenquelle.....	7
2.3.	Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten (GPK-c).....	7
2.3.1.	Toxizität und Dosierung.....	8
2.3.1.1.	Häufigkeit der Applikation.....	8
2.3.2.	Applikationsart von GPK-c.....	8
3.	Ausführung der Vorversuche	
3.1.	Erster Vorversuch zur Bestimmung der Erythemschwelle.....	9
3.2.	Zweiter Vorversuch zur Bestimmung der optimalen Bestrahlungsdauer zur Erzeugung einer Hautnekrose.....	10
4.	Ausführung des Hauptversuchs.....	11

V.	Histologische Methoden	
1.	Gewinnung der anatomischen Präparate.....	12
2.	Herstellung der histologischen Präparate	
2.1.	Fixierung der Organe.....	12
2.2.	Einbettung der Organe.....	12
2.3.	Färbemethoden.....	12
VI.	Histologie der Mäusehaut.....	13
VII.	Versuchsergebnisse.....	14
VIII.	Diskussion	
1.	Diskussion des Versuchsmodelles.....	23
2.	Diskussion der Versuchsergebnisse.....	24
IX.	Zusammenfassung.....	34
X.	Literaturverzeichnis.....	36

I. Problemstellung

PATT u. VOGEL entdeckten 1965 ein Verfahren zur Gewinnung eines antiinflammatorisch wirksamen Produktes aus Citrusfrüchten (4). Diese neue Substanz, ein Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten (GPK-c), wurde 1967 von der pharmazeutischen Firma Dr.Madaus & Co. (Köln-Merheim) zur klinischen Prüfung an die Universitäts-Hautklinik Mainz gegeben.

Bei 20 männlichen und weiblichen Patienten mit verschiedenen Lichtdermatosen, Lupus erythematoses subacutus und chronicus, Purpura und Status varicosus, wurden GPK-c Dragees geprüft. Die Wirkung und die Verträglichkeit waren gut bis sehr gut. Vor allem bei Lichtdermatosen wurde von NÜRNBERGER (45) eine erstaunlich gute Lichtschutzwirkung beobachtet. Auf Grund dieser klinischen Beobachtungen, besonders der guten Lichtschutzwirkung bei Lichtdermatosen, soll in dieser tierexperimentellen Arbeit untersucht werden, ob durch Behandlung mit GPK-c die akute Lichtentzündung bei weißen Mäusen beeinflußt werden kann.

Anhand histologischer Präparate der geschorenen Rückenhaut unbehandelter weißer Mäuse soll die akute Lichtentzündung in ihrem Ablauf beschrieben und im Vergleich die Veränderungen bei den mit GPK-c behandelten Versuchstieren diskutiert werden.

Die Tierexperimente wurden zusammen mit Herrn cand.med. METZNER durchgeführt, der an denselben Versuchstieren die Beeinflussung der UV-bedingten Ohrknorpelnekrose durch GPK-c untersuchte.

II. Geschichtlicher Rückblick

Dem Menschen fehlt ein Sinnesorgan, um die UV-Strahlen wahrzunehmen. Daher wurden sie erst 1801 von J.W. RITTER entdeckt (58). Der erste Arzt, der gewisse Hauterscheinungen mit der Lichteinwirkung in Zusammenhang gebracht hatte, war WILLAN, der schon 1798 das Ekzema solare kannte, desgleichen RAYER 1835 (76).

BAZIN beschrieb 1861 die Hydroa vacciniiformia als eine immer wiederkehrende Bläscheneruption, die in der Sommerzeit auftritt. HUTCHINSON gebrauchte 1878 als erster den Ausdruck Prurigo aestivalis für diese Bläschen (63). Die Rolle des Lichtes als ätiologischer Faktor für Hautkrankheiten wurde von Th. VIEIL 1887 (96), von UNNA 1890 und WOLTERS 1891 (102) und zwar für das sogenannte Ekzema solare nachgewiesen, wobei allerdings die vorhergenannten Autoren in Vergessenheit geraten waren.

FINSEN hat als erster die Bedeutung der kurzwelligen UV-Strahlen als Träger der Lichtwirkung festgestellt. Diese Erkenntnis erhielt durch Messungen von HAUSSER u. VAHLE einen präziseren Inhalt, in dem diese Autoren nachgewiesen haben, daß der erythemerzeugende Spektralbereich zwischen 310 und 280 $m\mu$ liegt, mit einem Maximum bei 297 $m\mu$ (61).

Die durch die Sonnenlichteinstrahlung bedingte Degeneration der Haut beschrieben E. COCKERELL (15) sowie WRIGHT u. WINER (103). Histologisch wurden die Lichtreaktionen, eingeschlossen die vom Sonnenbrand, von MIESCHER u. Mitarbeitern untersucht (59, 60, 61). Die histochemischen Veränderungen bei den Strahlenschäden der Haut beschrieben DANIELS (17) sowie SAMS u. SMITH (77).

III. Photodynamische Wirkung des Lichtes

MEYER u. SEITZ (58) teilten die Folgen der UV-Strahlung auf biologische Objekte in zwei große Gruppen ein: 1. Die allgemeine Wirkung destruktiver Art. 2. Die spezifische Wirkung photochemischer Art.

Eine destruktive Wirkung zeigt sich nach einer UV-Bestrahlung lebender Zellen. Die Zellen werden in ihrer Lebenstätigkeit behindert, geschädigt und abgetötet.

Aus der heute vorliegenden strahlenbiologischen Erfahrung ist zu folgern, daß einer der grundlegenden Vorgänge dabei die Denaturierung der Eiweißkörper des Protoplasmas und des Zellkerns ist.

Die Ergebnisse der biophysikalischen Erforschung der letzten Jahre legen den Gedanken nahe, daß es sich bei der zellzerstörenden Wirkung nicht etwa um eine allgemeine Schädigung der Zellen handelt, sondern daß dabei bestimmte mikroskopische und submikroskopische Zell- oder Zellkernelemente getroffen werden, die dann das Absterben der Zellen verursachen. Es ist anzunehmen, daß die Schädigung meist im Zellkern, im Chromatin zu suchen ist (58). So zeigten die Untersuchungen von KNAPP (44), daß aller Wahrscheinlichkeit nach der Angriffspunkt von UV-Strahlen die im Zellkern abgelagerte Nukleinsäure ist, und daß sich im zusammenhängenden Gewebe an diesen Zellzerstörungsvorgang infolge der Bildung biochemisch aktiver Zellzerfallprodukte die verschiedenartigsten pharmakologischen Folgereaktionen anschließen und zu verschiedenen physiologischen Endreaktionen führen können, die dann auch therapeutisch ausgenutzt werden können (58).

Die spezifischen Wirkungen beruhen auf den primären photochemischen Reaktionen, die an bestimmten sich im lebenden Gewebe befindenden Substanzen als unmittelbare Folge der Strahlenabsorption stattfinden. Die dabei veränderten oder gebildeten Substanzen erweisen sich dabei als biologisch aktiv und führen unmittelbar, oder nach ihrer Diffusion bzw. Abtransport durch den Kreislauf der Körperflüssigkeiten zu den physiologischen Wirkungen, die dann als Endreaktion der Strahlenwirkung beobachtet werden (58).

MEYER u. SEITZ (58) beobachteten, daß genau wie bei einer photographischen Platte unterhalb einer bestimmten Mindestdosis, dem sog. Schwellenwert, überhaupt keine Wirkung auftritt, und daß von diesem Schwellenwert ab die Rötung monoton mit der Dosis ansteigt.

Die morphologische UV-Reaktion der Haut weist folgende Kennzeichen auf: 1. Sie tritt nach einer Latenzzeit auf. 2. Die Reaktionsformen haben relativ scharfe Begrenzungen. 3. Sie haben eine mehr oder minder lange Dauer.

4. Nach deren Rückbildung stellen sich auch nach einer einmaligen Bestrahlung Pigmentveränderungen ein. (Über- oder Unterpigmentierung ist abhängig von der Reaktionsstärke.)

5. Stets bleibt eine Gewöhnung zurück. Deshalb muß die nächste Dosis für eine gleichstarke Reaktion stärker sein.

Je nach der verabfolgten Dosis zeigen die nach einer Latenz auftretenden Lichtreaktionen der Haut verschiedene Intensitäten, von denen man im allgemeinen 3 Grade unterscheiden kann: 1. Die erythematöse, 2. die bullöse und 3. die nekrotisierende Lichtreaktion (75).

IV. Experimentelle Untersuchungen

1.1. Theoretische Voraussetzungen zur Erythemschwellenbestimmung

Um für den Hauptversuch eine Maßzahl als Vergleichsmöglichkeit der effektiven Bestrahlungsstärke zu schaffen, bestimmten wir an der geschorenen Rückenhaut von Albinomäusen die Erythemschwellendosis. Diese hat gegenüber der in einer elektrischen Größe gemessene Bestrahlungsstärke den Vorteil, daß sie nicht nur die Strahlungsstärke des Brenners, sondern auch die Verschiedenartigkeit des biologischen Materials berücksichtigt, da ja auch innerhalb der Gattung der Albinomäuse biologische Differenzierungen auftreten.

Wir suchten die geringste Strahlendosis, die eine sichtbare Reaktion verursacht. Die erste sichtbare UV-Reaktion ist das Erythem. Die Strahlenwirkung, die sich im Hauterythem äußert, ist komplexer Natur. Zu ihrer Erklärung lassen sich drei verschiedene Möglichkeiten heranziehen: 1. Es findet eine photochemische Wirkung auf einen speziellen Eiweißbaustein, das Histidin, statt, das sich unter dem Einfluß der Bestrahlung in Histamin umwandelt (58). 2. Durch die UV-Strahlen wird eine Zerstörung lebender Zellen hervorgerufen, die histaminartige Substanzen aus dem Zellinneren austreten läßt und dadurch die Hautrötung verursacht (58). 3. Durch den UV-Reiz geben die Mastzellen histaminartige Granula ab.

Kapillaroskopische Untersuchungen von SCHUR u. NIEKAU (83) haben gezeigt, daß als Folge der Histaminfreisetzung die Kapillaren erweitert, bei großer Stärke auch in vermehrter

Zahl vorhanden, bzw. geöffnet, d.h. der Zahl nach über die Norm vermehrt an dem Kreislauf beteiligt sind. Dennoch ist das klinisch sichtbare Erythem hauptsächlich durch den stark dilatierten subpapillären Plexus bedingt, der für gewöhnlich kapillarioskopisch nicht erkennbar ist, jetzt aber erscheint. Das UV-Erythem ist also eine vom Nervenmechanismus unabhängige aktive Erweiterung der kleinsten Gefäße (58).

Die Latenzzeit bis zur ersten Reaktion beträgt nach den Untersuchungen von SCHALL u. ALIUS (78) 1 - 7, meist aber 2 Stunden. WIESCHER (59) stellte ebenfalls eine Latenz von 2 Stunden fest. KELLER (42) hatte durchschnittlich 5-6, GASSUL (24) 2 - 8 Stunden beobachtet. Die Latenzzeit steht meist in Beziehung zu der folgenden Reaktion, wenn auch dabei keine ausnahmslose Regel vorliegt. SCHALL u. ALIUS (79), die die Dauer der Latenz auf ein Erythem mittlerer Stärke bezogen, fanden: Je länger die Latenz, desto weniger Prozent übersteigen die mittlere Erythemstärke. Ferner ist die Latenzzeit abhängig von der Wellenlänge des verwendeten Lichtes (58).

Der Höhepunkt des Erythems soll nach SCHALL u. ALIUS (79) etwa 6 Stunden nach UV-Bestrahlung vorhanden sein. ROST u. KELLER (75) sind der Meinung, daß er meist zwischen 12 - 24 Stunden auftritt. MEYER u. SEITZ (58) geben genauere Angaben. Für die Bestimmung der Erythemschwelle empfehlen sie die Ablesung 7 bzw. 24 Stunden nach der Testbestrahlung, wobei die Ablesung nach 7 Stunden besser sein soll. Wir zogen die Ablesung nach 24 Stunden vor, da die Versuchsergebnisse nach 7 Stunden unserer Meinung nach noch keine Schlüsse zuließen.

1.2. Theoretische Voraussetzungen zur Bestimmung der optimalen Bestrahlungsdauer zur Erzeugung einer Hautnekrose

In diesem Vorversuch suchten wir das Strahlenquantum, das gerade ausreichte, um eine Nekrose der Epidermis bis in das Korium zu erzeugen. Wir suchten also eine Strahlendosis, die einen möglichst großen Schaden erzeugte, aber an der Haut der Versuchsmaus keine irreversiblen Schäden hinterließ. Auch sollte der Stress, dem die Maus durch die Versuchsvorbereitungen, wie

Rückenrasur und Applikation, ausgesetzt war, nicht noch durch die übermäßige Hitzeentwicklung des Brenners unnötig verstärkt werden, um die Ausfälle so klein wie möglich zu halten.

1.3. Theoretische Voraussetzungen zum Hauptversuch

Der Hauptversuch sollte als Grundlage für die spätere wissenschaftliche Auswertung dienen, in der wir den Ablauf der Entzündung von der 1. Stunde bis zum 23. Tag möglichst vollständig darstellen. In der Besprechung wird der normale Lichtentzündungsablauf neben den mit GPK-c beeinflussten gestellt.

2. Material und Methode

2.1. Versuchstiere

Für die Versuchsreihe wurden 120 männliche Albinomäuse verwandt. Es wurde darauf geachtet, daß die Tiere aus einem Stamm waren und sich das Gewicht der Tiere zwischen 21 - 23 Gramm hielt.

2.1.1. Voraussetzungen der Tierhaltung

Alle Tiere wurden unter den gleichen Bedingungen gehalten. Sie wurden mit Wasser und "Altromin", einem Spezialfutter aus Altroggen, ernährt. Die Tierkäfige standen in einem ventilierten Kellerraum, der tagsüber durch Neonlampen erhellt war. Die Tierexperimente wurden in einem Zeitraum von 4 Wochen (Dezember 1968) durchgeführt, um eine jahreszeitlich bedingte Schwankung der Abwehrbereitschaft auszuschließen.

2.1.2. Vorbereitung der Tiere zum Versuch

2.1.2.1. Haarentfernung

BABUCKE (5) konnte keinen Unterschied in der Erythembildung bei dem Vergleich der mit Enthaarungsmittel depilierten und rasierten Mäuse feststellen.

Wir entschieden uns trotzdem für die Rasur, um eine noch so geringe Lichtschutzwirkung durch eventuell noch vorhandene Salbenreste auszuschalten. Außerdem sollte eine eventuelle biochemische Beeinflussung ausgeschlossen werden.

auf dem Rücken der Versuchstiere wurde ein etwa 1 cm² großes Hautstück freirasiert. Da der für die Tierrasur bereitstehende elektrische Rasierapparat ein zu großes Scherblatt hatte, wurde der Rasierapparat "Sixtant" der Firma Braun verwandt, um eine möglichst große Schonung der Haut zu garantieren. Auch der Flaum wurde beseitigt, damit die Strahlung nicht gefiltert wurde.

2.2. Strahlenquelle

Für die UV-Bestrahlung wurde ein Quecksilber-Hochdruckbrenner vom Typ Q 600 der Quarzlampengesellschaft Hanau verwandt. Der Brenner befand sich während der Bestrahlung 40 cm vom Boden eines Glasgefäßes entfernt, in das die Versuchstiere ausgesetzt waren. Mit einer Selen-Photozelle, die mit einem Amperemeter verbunden war, wurde die gleichmäßige Bestrahlungsstärke kontrolliert.

2.3. Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten (GPK-c)

Neuere Untersuchungen ergaben, daß in den Citrusarten eine anti-inflammatorisch wirksame Fraktion nachgewiesen werden kann, die nicht identisch ist mit den bisher diskutierten Stoffen der Flavonoidreihe. Diese Fraktion, GPK-c, stammt aus den Schalen von Citrusfrüchten. Es soll sich dabei um einen Komplex aus Polysacchariden und Polypeptiden handeln. Dieser Komplex ist hydrolytisch und enzymatisch spaltbar, wobei Zucker und Aminosäuren als Spaltprodukte auftreten (94).

Diese GPK-c-Fraktion hat in antiinflammatorischen Tierversuchen eine etwa 4,5 mal stärkere Wirkung als Hydrocortisonphosphat. Beim Vergleich mit dem bekannten Antiphlogistikum Phenylbutazon wird die starke antiinflammatorische Wirksamkeit des Pulvers noch deutlicher. Diesem Antiphlogistikum gegenüber besitzt GPK-c sogar eine 60 bis 200 mal stärkere antiinflammatorische Wirksamkeit, wenn es z.B. als Vergleich bei dem Ovalbumin- und Dextraödem von Ratten angewandt wird (94).

Das nach einem bestimmten Verfahren (4) gewonnene Produkt ist ferner in der Lage, die Kapillarresistenz der Vitamin-P-arm ernährten Ratte zu steigern.

Die Kapillarpermeabilität wurde am Verhalten des sogenannten Polyvinylpyrrolidonödems der Ratte und an dem Übertritt von Flüssigkeit und Polyvinylpyrrolidon aus dem Plasma in die Lymphe von Ratten geprüft. Der Versuch ergab eine "Abdichtung" der Kapillarmembranen für Wasser und Makromoleküle. Die durch Histamin bzw. physiologisch aktive Polypeptide wie Bradykinin und Kallidin gesteigerte Kapillarpermeabilität wird durch das erfindungsgemäß hergestellte Produkt wieder normalisiert (4).

2.3.1. Toxizität und Dosierung

Die GPK-c Lösung wurde nach dem Verfahren von GÖDAN (26) hergestellt. Nach ihren Untersuchungen betrug die größtmögliche Konzentration einer GPK-c Lösung 0,8 mg/ml.

Weiter stellte GÖDAN fest, daß 0,02 mg GPK-c/Gramm der Versuchsmaus keinerlei toxische Schäden bei den Albinomäusen hervorrief. Deshalb arbeiteten wir mit derselben Konzentration und Dosierung.

2.3.1.1. Häufigkeit der Applikation

Da GÖDAN (26) gute Ergebnisse erzielte, wenn sie GPK-c eine Stunde vor und 24, 48 und 72 Stunden nach der Bestrahlung injizierte, übernahmen wir auch diese Versuchsvoraussetzungen.

2.3.2. Applikationsart von GPK-c

Das Pharmakologische Institut der Universitätsklinik Mainz (Direktor: Prof.Dr. G. Kuschinsky) ließ uns einen 8 cm langen Plastikzylinder mit durchlöcherter Kopfverschluß, in dem die Versuchsmaus für die intravenöse Applikation von GPK-c in eine der Schwanzvenen ohne Schädigung festgehalten werden konnte. Bevor die hintere Abdeckscheibe an dem Zylinder arretiert wurde, wurde der Schwanz der Maus durch das zentrale Loch dieser Scheibe hindurchgezogen. Vor der Injektion in eine der Schwanzvenen, wurde der Schwanz der Versuchsmaus in angewärmtes Wasser gehalten, um durch die dilatierten Schwanzvenen eine leichtere Applikation zu ermöglichen.

3. Ausführung der Vorversuche

3.1. Erster Vorversuch zur Bestimmung der Erythemschwelle

Fünf Mäusen wurde der Rücken vollständig rasiert. Während der Bestrahlung wurde die zu bestrahlende Maus so am Nacken und Schwanz gehalten, daß sie zu keiner Lageveränderung fähig war. Auf die geschorene Rückenhaut wurde eine Schablone aus lichtundurchlässiger Plastikfolie gehalten, in die 6 runde Löcher in gleicher Größe gestanzt waren. Dadurch war nur die Haut unter den 6 Löchern dem UV-Licht ausgesetzt.

Jedes von der Schablone freigelassene Hautstück wurde 30 Sekunden länger bestrahlt. Das erste Loch wurde 30 Sekunden, das 6. 180 Sekunden bestrahlt.

Die Erythemschwelle des UV-Lichtes definieren MEYER u. SEITZ (58) als die schwächste, aber noch scharf gegen die nichtbestrahlte Umgebung begrenzte Hautrötung. Zur Ablesung suchten wir also das Feld, das gerade eben als erstes sich deutlich von seiner Umgebung abgrenzen ließ, während das vorhergehende Feld überhaupt nicht sichtbar war oder zum mindesten keine der Schablone entsprechende Umgrenzung aufwies.

Wir beobachteten, daß die Stärke des Erythems bis zu 24 Stunden langsam zunahm, danach aber langsam wieder abnahm. Das Erythem hatte demzufolge nach 24 Stunden seinen Höhepunkt. Deshalb benutzten wir zur Bestimmung der Erythemschwelle die Beobachtungen nach 24 Stunden und gingen damit mit den Autoren ROST u. KELLER (75) sowie MEYER u. SEITZ (58) konform.

Wir fanden nach den Ablesebedingungen von MEYER u. SEITZ das erste noch scharf gegen die nichtbestrahlte Umgebung abgegrenzte Erythem bei 4 Versuchstieren nach 90 Sekunden, während es bei dem 5. bei 120 Sekunden Bestrahlungszeit lag.

Die Erythemschwellendosis, die wir durch die Dauer der Bestrahlung ausdrückten, betrug also im Mittel ca. 90 Sekunden.

3.2. Zweiter Vorversuch zur Bestimmung der optimalen Bestrahlungsdauer zur Erzeugung einer Hautnekrose

sechs Serien zu je fünf männlichen Albinomäusen wurde ein 1 cm^2 großes Hautstück auf dem Rücken freirasiert. Jede Serie wurde 5 Minuten länger als die vorhergehende der Bestrahlung ausgesetzt. Die erste Serie von fünf Mäusen wurde 10 Minuten bestrahlt, die letzte 35 Minuten. Die Hinterfüße der Versuchstiere wurden während der Dauer der Bestrahlung zusammengebunden. Dadurch war die Bewegungsfähigkeit der Tiere erheblich eingeschränkt. Jede Serie wurde gleichzeitig bestrahlt.

Vier Tiere waren den Versuchsbedingungen nicht gewachsen: Zwei starben noch während der Bestrahlung nach 25 Minuten, ein Tier kurz nach der 35 minütigen, ein anderes nach der 15 minütigen Bestrahlung.

Die Reaktion der Haut wurde über 8 Tage beobachtet. Am 9. Tag wurden die restlichen 26 Mäuse durch Dekapitation getötet. Von jedem bestrahlten Hautstück wurde ein mit Hämatoxylin-Eosin gefärbtes histologisches Präparat angefertigt.

In den neun Präparaten der Mäuse, die 10 und 15 Minuten bestrahlt worden waren, war histologisch noch keine Nekrose zu erkennen. Bei den fünf 20 Minuten bestrahlten waren zwei Nekrosen, wovon die eine rein epidermal war, während die zweite schon in das Korium reichte. Unter den vier Präparaten der Mäuse, die 25 Minuten bestrahlt worden waren, waren zwei epidermale Nekrosen und eine, die in das Korium reichte. Von den fünf 30 Minuten bestrahlten hatten eine eine epidermale und drei eine tief in das Korium reichende Nekrose. Von den drei Mäusen, die noch aus dem Versuch der 35 minütigen Bestrahlung hervorgegangen waren, hatten zwei eine in das Korium reichende Nekrose und eine eine epidermale Nekrose.

60 % der 30 Minuten bestrahlten Mäuse hatten die Schädigung, die wir als optimale Schädigung zur Erzeugung einer Nekrose bis in das Korium suchten, die mit der geringsten Strahlendosis zu erzeugen war. Auch MÖLLENDORF (62) und GÖDAN (26) arbeiteten bei ihren Bestrahlungsexperimenten mit weißen Mäusen hauptsächlich mit dieser Zeit.

4. Ausführung des Hauptversuchs

Wir benötigten 104 Albinomäuse für diesen Versuch. Davon wurden 52 mit GPK-c therapiert und 52 unbehandelt bestrahlt. Vor dem Versuch wurde jeder Maus ein 1 cm² großes Hautstück, möglichst auf derselben Stelle des Rückens, freirasiert. Die Mäuse, die trotz aller Vorsicht mechanische Verletzungen davontrugen, wurden aussortiert. Nach der Rasur wurde das Versuchstier, welches für die GPK-c Behandlung bestimmt war, noch einmal gewogen, um die für das jeweilige Gewicht entsprechende Dosis und Flüssigkeitsmenge zu berechnen.

Eine Stunde vor der Bestrahlung wurde das Versuchstier mit GPK-c prophylaktiert. Mit zusammengebundenen Hinterfüßen wurde es in das Bestrahlungsgefäß ausgesetzt, um das Tier zu zwingen, sich in einer Ebene zu halten und sich nicht am Rande des Gefäßes aufzurichten und der Lampe entgegenzuspringen. Die prophylaktierten Mäuse wurden 24, 48 und 72 Stunden nach der Bestrahlung je noch einmal mit GPK-c therapiert.

Um einen möglichst vollständigen Entzündungsablauf zu erzielen, wurde folgende Zeittabelle für den jeweiligen Zeitpunkt der Tötung nach der Bestrahlung von uns aufgestellt. Zu jedem Zeitpunkt wurden je 2 prophylaktierte und 2 unbehandelte Mäuse getötet.

1. Tag:

Nach 2 - 4 - 6 - 8 - 10 - 12 - 15 - 18 - 21 - 24 Stunden

2. Tag:

Nach 30 - 36 - 48 Stunden

1. Woche:

Nach 3 - 4 - 5 - 6 - 7 Tagen

2. - 4. Woche:

Nach 9 - 11 - 13 - 15 - 17 - 19 - 21 - 23 Tagen

14 der prophylaktierten und 11 der unbehandelten Albinomäuse starben während des Versuchsablaufs. Dadurch mußte die gesamte Serie, die für einen bestimmten Tötungszeitpunkt bestimmt war, in der ein Versuchstier ausgefallen war, wiederholt werden. Wenn nur das eine Tier ersetzt worden wäre, hätten wir keine genauen Vergleichsmöglichkeiten mehr zwischen den unbehandelten

und behandelten Mäusen für diesen Zeitpunkt gehabt. Deshalb wurden noch 60 Tiere nachträglich benötigt. Die Versuchstiere wurden ohne Narkose durch Dekapitation getötet.

V. Histologische Methoden

1. Gewinnung der anatomischen Präparate

Nach der Dekapitation des Versuchstieres wurde die rasierte und bestrahlte Haut im Bereich der maximalen Hautläsion exzidiert. Dabei wurde darauf geachtet, daß auf einer Seite die behaarte Haut mit herauspräpariert wurde.

2. Herstellung der histologischen Präparate

2.1. Fixierung der Organe

Die exzidierte Haut kam zur Fixierung 3 Tage in Bouin'sche Lösung (ROMEIS (74) § 304).

2.2. Einbettung der Organe

Die Einbettung der Organteile erfolgte in Paraffin. Die fixierten Hautstücke wurden auf dem Boden der Petrischale aufrecht auf der Kante fixiert, senkrecht zur späteren Schnittebene des Mikrotoms.

2.3. Färbemethoden

Mit einem Schlittenmikrotom (C-Schliff) wurden 4 μ dicke Schnitte angefertigt und auf die Objektträger mit Eiweiß-glycerin aufgezogen.

Folgende Färbungen bzw. Reaktionen wurden angewandt:

1. Hämatoxylin-Eosin (ROMEIS (74) § 703)
2. Bindegewebsfärbung nach DOMAGK (ROMEIS § 710)
3. Elasticafärbung nach GOMORI (ROMEIS § 1607)
4. PAS-Reaktion nach McMANUS (ROMEIS § 1121)
5. Alcianblau-PAS-Reaktion (ROMEIS § 2077)
6. Toluidinblau-Färbung (ROMEIS § 1131)

VI. Histologie der Mäusehaut

Der Aufbau der Mäusehaut unterscheidet sich in keinen wesentlichen Punkten von der des Menschen. Wir unterscheiden die Cutis, die noch einmal in die Epidermis und das Korium unterteilt wird, und die Subcutis.

Die Epidermis ist zart und stellt ein geschichtetes Plattenepithel dar, doch sind die einzelnen Zellschichten gut voneinander abgegrenzt. Die behaarte Haut ist im allgemeinen sehr dünn. Die Zellformen sind bei der Maus besonders schön und regelmäßig gebaut. Die der Basallage sind prismatisch und zeigen mitotische Figuren. Darauf ist das Stachelzellager aufgebaut, das aus 2 - 3 Schichten besteht und in das Stratum granulosum mit keratohyalin granula übergeht. Die Interzellularräume zwischen diesen Zellen sind beträchtlich enger und werden nach und nach undeutlicher. Das Stratum lucidum fehlt. Das Stratum corneum ist überall vorhanden und enthält 4 - 5 Lagen abgeflachter toter Zellen. Pigment ist bei den weißen Mäusen weder in den Epidermiszellen noch in den Bindegewebszellen der Cutis zu finden (37). Die Oberfläche der Koriums bilden Dermalpapillen, die in die Epidermis reichen. Doch tritt das kollagene Gewebe im Korium hinter einer sehr stark entwickelten quergestreiften Muskulatur zurück (Panniculus carnosus). Die Muskelfasern sind längs und quergeschichtet und mit schräg verlaufenden Fasern durchflochten. Das Korium ist reich durchblutet.

Die Subcutis besteht aus lockerem Bindegewebe mit vielen elastischen Fasern. Sie enthält Fettzellen und zahlreiche Lamellenkörperchen (32, 16, 28, 38, 39).

VII. Versuchsergebnisse

In allen histologischen Präparaten ist an dem einen Ende das Zentrum der Entzündung und an dem anderen Ende eine sehr geringe Reaktion, die durch den Schutz der Haare bedingt ist, zu sehen. Dadurch ist innerhalb eines jeden Präparates eine Abstufung der Entzündung zu erkennen. Bei der folgenden Beschreibung wird die unbehandelte Lichtentzündung der mit GPK-c behandelten gegenübergestellt, wobei bei der Beschreibung der behandelten nur der Unterschied herausgestellt wird.

Nach 2 Stunden:

Unbehandelt:

Im Korium ist ein schwaches Ödem ausgebildet. Die Subcutis und der Panniculus carnosus sind auf Grund eines Ödems verbreitert und auseinandergedrängt. Das Ödem besteht aus serösem Exsudat und ist sehr zellarm.

Behandelt:

Das Ödem im Korium und in der Subcutis ist schwächer ausgebildet.

Nach 4 Stunden:

Unbehandelt:

Es besteht ein deutliches Ödem in dem Korium und in der Subcutis. Die Leukozyten in den Kapillaren sind vermehrt. Den Beginn der Emigration zeigen die pericapillär vorhandenen Leukozyten an. Im Exsudat sind noch keine Leukozyten zu finden.

Behandelt:

Es ist wieder ein deutlich geringeres Ödem zu beobachten.

Nach 6 Stunden:

Unbehandelt:

Die Kerne des Stratum spinosum sind gequollen. Innerhalb der Subcutis besteht ein Alcianblau-PAS positives mukoides Ödem.

Behandelt:

Die Reaktion ist schwächer.

Nach 8 Stunden:

Unbehandelt:

Die Kerne der Epidermis sind pyknotisch und hyperchromatisch. Die Zellen sind homogenisiert, haben ein glasiges Cytoplasma und sind schlecht anfärbbar. Die Leukozytenemigration ist im Korium und besonders in der Subcutis deutlicher geworden. Die Mastzellen sind degranuliert und zahlenmäßig vermindert.

Behandelt:

Das Ödem ist schwacher. Die Leukozytenemigration ist wesentlich geringer.

Nach 12 Stunden herrschen im wesentlichen die gleichen Veränderungen vor.

Nach 15 Stunden:

Unbehandelt:

Die Epidermis läßt sich in der H.E.-Färbung nicht mehr anfärben. Auch das Epithel ist stellenweise von Leukozyten infiltriert. Im Bereich der Infiltration im Korium sind die elastischen Fasern nur noch bruchstückhaft anfärbbar. Es tritt durch die ödembedingte Auseinanderdrängung der kollagenen Fasern eine Spaltbildung auf. Die erweiterten Kapillaren sind mit PAS-positivem Material gefüllt. Auch das Ödem des Koriums ist PAS-positiv. Bei der Alcianblau-PAS Reaktion sind Mastzellen zu erkennen, die Granula abgeben. Das Ödem in der Subcutis ist massiv geworden.

Behandelt:

Das Ödem und die Leukozyteninfiltration sind wieder schwächer. Die elastischen Fasern sind besser angefärbt und deutlich zu erkennen.

Nach 18 Stunden:

Unbehandelt:

Im Panniculus carnosus treten die ersten Granulozyten auf.

Behandelt:

Das Ödem sowie die Leukozyteninfiltration sind geringer. Die elastischen Fasern sind noch vollständiger dargestellt.

Nach 21 Stunden:

Unbehandelt:

Die untergehende Epidermis ist in der DOMAGK-Färbung schwach gelb dargestellt. Im oberen Korium sind die elastischen Fasern nur noch bruchstückhaft dargestellt und der Faser-verlauf nur bei starker Abblendung zu erkennen.

Behandelt:

Das Ödem und die subepidermale Infiltration sind deutlich geringer. In der DOMAGK-Färbung ist noch keine Gelbfärbung der Epidermis zu erkennen. Die elastischen Fasern sind noch immer wenig verändert.

Nach 24 Stunden:

Unbehandelt:

Die Zahl der Leukozyten hat sich besonders in der Subcutis noch sehr vergrößert (Abb. 1 S. 17). Innerhalb der subepidermalen Infiltration und im übrigen Korium sind die elastischen Fasern stark reduziert.

Behandelt:

Die erste stärkere Elasticaschädigung macht sich bemerkbar. Die Leukozyteninfiltration ist schwächer (Abb. 2 S. 17). Ebenso ist das Ödem schwächer ausgebildet (Abb. 2 S. 17).

Nach 30 Stunden:

Unbehandelt:

Die nekrotisierende Epidermis ist bei der DOMAGK-Färbung stärker gelb gefärbt. Im rasierten und bestrahlten Hautbezirk fehlen die Mastzellen im oberen Korium, während sie in dem durch die Haare geschützten Hautbezirk im oberen wie unteren Korium zu beobachten sind.

Behandelt:

Auch bei der DOMAGK-Färbung ist jetzt in der Gelb-Färbung der Epidermis kein Unterschied mehr zu erkennen. Die Elasticaschädigung ist auch sehr weit fortgeschritten. Das Ödem in der Subcutis ist wieder geringer.

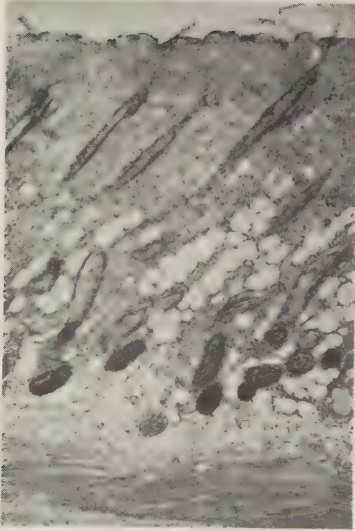


Abb. 1:
Nach 24 Stunden, unbehandelt:
Die Subcutis ist auf Grund
eines Ödems auf das doppelte
verbreitert



Abb. 2:
Nach 24 Stunden, behandelt:
Die Leukozyteninfiltration
ist schwächer.

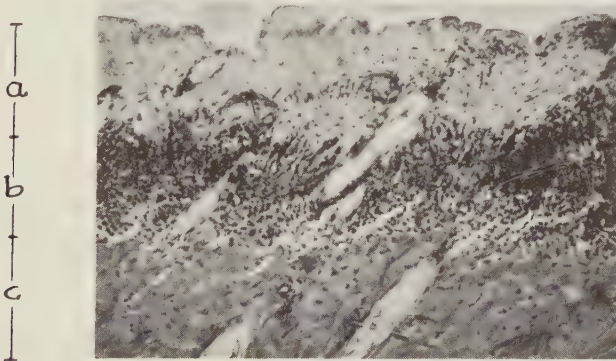


Abb. 3: (DOMAGK-Färbung)
Nach 36 Stunden, unbehandelt:
Der Demarkationswall der Leukozyten (b)
trennt das nekrotisierte Korium mit der nekrotischen
Epidermis (hellere Gelbfärbung) (a) von dem lebenden
Korium (rötlich-gelbe Färbung) (c).

Nach 36 Stunden:

Unbehandelt:

Am Übergang zu dem behaarten Hautbezirk ist eine Akanthose der Epidermis aufgetreten. Im Bereich der Nekrose sind die elastischen Fasern verklumpt und rarefiziert. Die Mastzellen verringern sich im rasierten Hautbezirk immer mehr. Deutlich ist die Demarkation mit einem Leukozytenwall im oberen Korium zu erkennen. (Abb. 3 S. 17) Allmählich kommt zu der leukozytären Infiltration im Korium und in der Subcutis eine lymphozytäre hinzu, wobei die Leukozyten aber noch überwiegen.

Behandelt:

Es ist kein neues Unterscheidungsmerkmal hinzugetreten.

Nach 48 Stunden:

Unbehandelt:

Die elastischen Fasern sind im Korium nur noch ganz vereinzelt zu finden. Das Ödem im Korium und in der Subcutis bildet sich allmählich zurück.

Behandelt:

Ein schwächeres Ödem und weniger Granulozyten sind zu beobachten.

Nach 3 Tagen:

Unbehandelt:

Unter dem nekrotischen Gewebe ist eine erste von den Haarfollikeln ausgehende Epithellippe als Zeichen der Epidermisregeneration zu erkennen. Zu der Akanthose am Übergang zum behaarten Teil kommt eine Hyperkeratose hinzu.

behandelt:

Es ist noch keine Epithelneubildung eingetreten. Die Entzündung ist geringer ausgeprägt.

Nach 4 Tagen:

Unbehandelt:

Von den Haarfollikeln ausgehend, entsteht eine neue Epidermis unter der Nekrose. Die Epitheldecke ist aber noch nicht geschlossen. (Abb. 4 S. 22)

Elastische Fasern sind nur noch ganz vereinzelt im untersten Teil des Koriums zu beobachten.

Behandelt:

Jetzt beginnt auch eine Regeneration der Epidermis mit Ausbildung von Epithelbrücken zwischen den Haarfollikeln.

Nach 5 Tagen:

Unbehandelt:

Die Akanthose der Epidermis im behaarten Teil hat sich sehr stark entwickelt (10 Zellschichten). Unter der Epidermisneubildung erscheinen die ersten spindelfaserigen Fibroblasten.

Behandelt:

Es ist kein neues Unterscheidungsmerkmal hinzugetreten.

Nach 6 Tagen:

Unbehandelt:

Die Nekrose ist fast ganz abgestoßen. Die neugebildete Epidermis zeigt Akanthose und Hyperkeratose. Das Ödem im Korium ist verschwunden, in der Subcutis ist es nur noch sehr gering ausgeprägt. Das Verhältnis der Infiltration von Leukozyten zu Lymphozyten verhält sich wie ca. 50:50.

Behandelt:

Die Nekrose hat sich noch nicht abgestoßen und die Epitheldecke ist noch nicht geschlossen. Das Ödem in der Subcutis ist nur noch schwach zu erkennen.

Nach 7 Tagen:

Unbehandelt:

In der neugebildeten Epidermis, die jetzt geschlossen ist, tritt die Akanthose mit der Hyperkeratose immer mehr hervor. Stellenweise ist eine hyperkeratotische Pfropfbildung zu beobachten. Das Stratum granulosum ist auch verbreitert. Die Fibroblastenproliferation des oberen Koriums hat deutlich eingesetzt. Die elastischen Fasern sind um die Haarbälge herum noch gut erhalten. Im unteren Korium zeigen sich Strukturen, die sich wie elastisches Gewebe färben. Die cutane Infiltration ist jetzt vorwiegend lymphozytär.

Behandelt:

Die Fibroblastenproliferation ist stärker. Die Epitheldecke ist noch nicht geschlossen und die Akanthose geringer ausgeprägt.

Nach 9 Tagen:

Unbehandelt:

In der neugebildeten Epidermis wird die Akanthose und Hyperkeratose immer deutlicher. Auch die subepidermale Reparation ist stark ausgebildet. Im Bereich der subepidermalen Fibroblastenproliferation sind deutlich in der Alcianblau-PAS-Reaktion saure Mucopolysaccharide zu beobachten, die bei der Toluidinblau-Färbung Metachromasie zeigen (Substratphase). Im unteren Korium hat sich mehr elasticaähnliches Material gefärbt.

Behandelt:

Die Epitheldecke ist jetzt vollständig geschlossen. Die Reparation des Koriums ist stärker.

Nach 11 Tagen:

Unbehandelt:

Die Akanthose besteht aus 7 Zellschichten. Im unteren Teil der subepidermalen Fibroblastenproliferation nimmt der Gehalt an sauren Mucopolysacchariden ab (Kollagenphase). Im neugebildeten Gewebe sind keine elastischen Fasern, sondern nur kollagene Fasern zu finden.

Behandelt:

Der Unterschied zeigt sich in der fortgeschritteneren Kollagenisierung. Auch ist die Akanthose um 2 Schichten weniger entwickelt.

Nach 13 Tagen:

Unbehandelt:

In dem Regenerationsgewebe des Koriums sind noch keine Mastzellen zu sehen.

Behandelt:

Die Akanthose der Epidermis ist schwächer. Die Dicke der Regenerationsschicht im Korium ist ausgeprägter. Zum ersten Mal treten Mastzellen im neugebildeten Korium auf.

Nach 15 Tagen:

Unbehandelt:

Das neugebildete Koriumgewebe ist in der H.E-Färbung nur noch schlecht vom alten Bindegewebe zu unterscheiden. Der elastica-ähnliche Streifen im unteren Korium ist dicker geworden. Das Material ist sehr fragmentiert. Die Entzündungszellen sind in der Zahl zurückgegangen.

Behandelt:

Es ist kein neues Unterscheidungsmerkmal hinzugetreten.

Nach 19 Tagen:

Unbehandelt:

Es ist immer noch ein Restschorf vorhanden (S.22, Abb. 5). Die entzündlichen Infiltrate im Bindegewebe sind stark verringert. Die ersten Mastzellen treten im neugebildeten Teil des Koriums auf. Dort sind saure Mucopolysaccharide nur noch stellenweise nachweisbar.

Behandelt:

Die Akanthose und Hyperkeratose ist schwächer ausgebildet. (S.22, Abb. 6) In der Subcutis sind keine Infiltrate mehr, die im Korium sind fast ausschließlich lymphozytär.

Nach 23 Tagen:

Unbehandelt:

Der Restschorf ist restlos abgestoßen. Die Akanthose hat sich wieder auf 5 Schichten zurückgebildet. Die Faserneubildung ist abgeschlossen. Nur noch stellenweise sind saure Mucopolysaccharide vorhanden. Im unteren Korium fällt der in der Struktur elasticaähnliche Streifen auf. Es sind keinerlei entzündliche Infiltrate und Ödeme zu beobachten.

Behandelt:

Das Stratum spinosum besteht nur aus 3-4 Schichten. Die Hyperkeratose ist um 1-2 Hornlagen dünner.

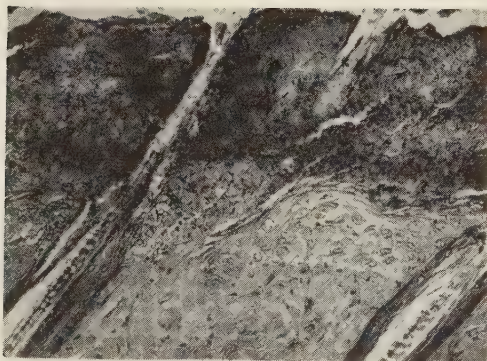


Abb.4: Nach 4 Tagen, unbehandelt:
Von den Haarfollikeln ausgehend,
entsteht eine neue Epidermis unter
der Nekrose.

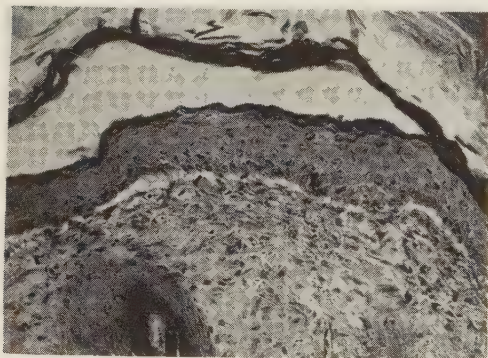


Abb.5: Nach 19 Tagen, unbehandelt:
Die Acanthose und Hyperkeratose der
neuentwickelten Epidermis ist noch
stark entwickelt.

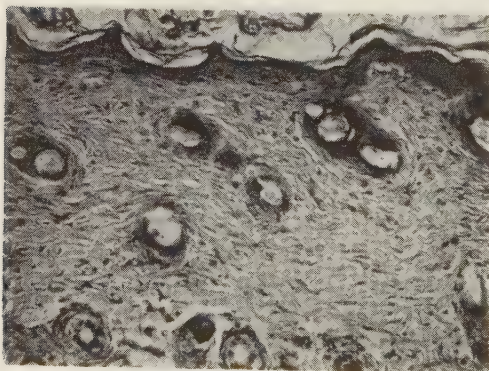


Abb.6: Nach 19 Tagen, behandelt:
Die Acanthose und Hyperkeratose
ist schwächer ausgebildet.

VIII. DISKUSSION

1. Diskussion des Versuchsmodelles

Für unsere experimentelle Arbeit wurde als warmblüter die weiße Maus verwandt, da sie schon anderen Autoren als Versuchsobjekt für photodynamische Reaktionen diente (25, 72, 61, 17, 68, 91).

Wir versuchten die Versuchsvorbereitungen so zu standardisieren, daß wir für unsere Vergleiche davon ausgehen konnten, daß jedes Tier zwar nicht dem anderen gleich war, aber wenigstens so weit wie möglich ähnelte. Wir wählten für unsere Versuche nur männliche Tiere aus demselben Stamm mit ähnlichem Gewicht aus. Die äußeren Einflüsse wie Ernährung, Temperatur und Lichtverhältnisse wurden konstant gehalten.

Der Hauptversuch wurde innerhalb von 4 Wochen im Dezember 1968 durchgeführt, damit die Versuchsergebnisse nicht durch die jahreszeitlich bedingte endogene Abwehrbereitschaft gegen UV-Strahlen in Frage gestellt würden. BABUCKE (5) berichtete, daß eine endogene Abwehrbereitschaft gegen UV-Strahlen bestehe, die im Sommer zunehme.

Auch die Bestrahlung versuchten wir so weit wie möglich zu standardisieren, indem wir jede Serie mit der Vergleichsserie gleichzeitig bestrahlten und uns durch eine Selen-Photozelle, die mit einem Ampèremeter verbunden war, über die gleichmäßige Bestrahlungsstärke informierten. Ein Unsicherheitsfaktor war aber doch noch in der Beweglichkeit der Tiere, die trotz der zusammengebundenen Hinterfüße hochzuspringen und sich an der Wand des Gefäßes hochzuziehen versuchten.

Wir hoffen, trotz der biologischen Schwankungsbreite durch unsere standardisierten Versuchsvorbereitungen eine Vielzahl von Fehlerquellen umgangen zu haben. Wenn trotzdem manche Zellbilder von dem zu erwartenden Ergebnis abweichen, versuchten wir die Abweichung durch die Zahl der Serien (je zwei behandelte und unbehandelte Tiere) und durch die dichte Folge der Tötungen zu kompensieren.

2. Diskussion der Versuchsergebnisse

Nach 6 Stunden zeigt die Quellung der Kerne des Stratum spinosum die erste Reaktion der Epidermis an. Die Pyknose und Hyperchromie der Stachelzellkerne beginnt nach 8 Stunden. Die Stachelzellkerne sind homogenisiert und haben ein glasiges Cytoplasma. Nach 15 Stunden ist die Epidermis stellenweise von Leukozyten infiltriert und nicht mehr anzufärben. Bei den Unbehandelten ist der Epidermisuntergang nach 21 Stunden in der DOMAGK-Färbung durch Gelbfärbung nachweisbar, bei den Behandelten erst nach 30 Stunden.

Sowohl bei den Behandelten wie Unbehandelten ist nach 36 Stunden eine Akanthose im gleichen Ausmaß am Übergang zum behaarten Hautbezirk zu beobachten.

In der unbehandelten Serie bildet sich die erste von den Haarfollikeln ausgehende Epithellippe schon nach 3 Tagen unter dem nekrotischen Gewebe. In der behandelten Serie sehen wir diese erste Epithelregeneration erst einen Tag später. Die Dicke der Nekrose läßt keinen Unterschied erkennen. Auch hängt sie für die genaue Beurteilung von zu vielen unkontrollierbaren Faktoren ab.

Nach 7 Tagen ist die Epitheldecke bei den unbehandelten Tieren geschlossen. Bei den behandelten ist diese Beobachtung erst 2 Tage später zu machen. Danach bildet sich eine Akanthose und Hyperkeratose auch in der neugebildeten Epidermis aus. Auch MIESCHER (59) sah, daß unter dem Einfluß des UV-Lichtes zusammen mit der Hornschicht auch die Epidermis dicker wurde. Aber bei den Behandelten bildet sich die Akanthose viel schwächer aus, sodaß auch nach dem allgemeinen Rückgang der Akanthose die Epidermis der Behandelten nach 23 Tagen flacher ausgebildet ist. (Nach 11 Tagen besteht das Stratum spinosum der Unbehandelten aus 7, nach 23 Tagen aus 5 Zellschichten, das der Behandelten aus 5, nach 23 Tagen aus 3-4 Zellschichten.) Die Hyperkeratose ist bei beiden Serien nach 23 Tagen noch vorhanden, bei den Behandelten besteht sie jedoch aus 1-2 Hornlagen weniger.

BECKER (9) und ZIMMERMANN (105) nehmen an, daß in dem verdickten Stratum corneum, das sich nach der UV-Bestrahlung entwickelt, die Hornlagen fester zusammenheften als normalerweise. Die Verdickung wäre demnach auf vermehrte Produktion und verminderte Abstoßung zurückzuführen.

Bei den Behandelten ist also eine um 9 Stunden verzögerte Degeneration der Epidermis zu beobachten. Die Regeneration tritt erst 2 Tage später ein. Am deutlichsten ist aber die Wirkung des GPK-c in der geringeren Dicke der Epidermis zu finden.

GPK-c muß also eine gewisse Schutzwirkung auf die Epidermis entfalten, um diese verminderten Reaktionen erklären zu können.

Im Vordergrund der beobachteten Lichtentzündung stand neben der Ödementwicklung die starke Vermehrung der Leukozyten. Eine schwache Leukozytenemigration beginnt ca. 4 Stunden nach der Bestrahlung.

LETTERER (47) ist der Meinung, daß aus geschädigten und zu Grunde gehenden Zellen Stoffe von Polypeptid- und Glykopeptidcharakter frei werden, welche von sich aus gewebsreizend wirken. Somit würde also die erste Reizung des Gewebes durch das eigentlich ursächlich entzündungserregende Agens unterstützt und durch einen gewebs eigenen, sekundär gebildeten Reizstoff, das Leukotaxin, welches die Symptomatik der Entzündung in Form der Permeabilitätssteigerung und der Leukozytenemigration beeinflusst, sehr nachhaltig verstärkt. Dieses Entzündungsprodukt nannte „ENKINS (56) "leukocytic promoting factor". Der Grund für die Frühemigration ist die erhöhte Gefäßpermeabilität. Während der Grund für die Spät-emigration bei den Leukotaxinen zu suchen ist (106). Nach neueren Untersuchungen sind es vor allem Orte mit höherer H-Jonen Konzentration, nach denen die Leukozyten hinwandern (36).

Nach 15 Stunden war die Epidermis stellenweise von Leukozyten durchwandert. Nach 24 Stunden lösen die Monozyten und Histiozyten in der monoxytären Überwindungsphase die Kampfphase (SCHELLINGER, 81) mit der aktiven Aufnahme und

und Verarbeitung corpuskulärer Elemente im Entzündungsgebiet ab. METSCHNIKOFF (57) nannte diese Phase die Phase der Gewebstrümmerbeseitigung.

Nachdem nach 24 Stunden der Höhepunkt der Leukozytenausschwemmung war, treten nach 36 Stunden die ersten Lymphozyten in der lymphozytären Heilphase (80) auf. Das Verhältnis der Leukozyten zu Lymphozyten ist nach 6 Tagen ca. 50 : 50. Nach 13 Tagen überwiegen die Lymphozyten bei weitem. Am 19. Tag sind in der behandelten Serie nur noch Lymphozyten zu beobachten. Bei der unbehandelten Serie ist diese Beobachtung erst am 23. Tag zu machen.

Bei dem Vergleich der beiden Versuchsserien weisen die mit GPK-c behandelten eine deutlich geringere Granulozytenzahl auf. Auch sind die letzten Granulozyten bei den Behandelten 4 Tage früher nicht mehr zu finden.

Diese Befunde weisen darauf hin, daß unter der Wirkung von GPK-c wahrscheinlich eine geringere Zellschädigung unter der Bestrahlung aufgetreten ist und eventuell dadurch eine geringere Menge Leukotaxin frei wurde. Es besteht aber auch die Möglichkeit, daß GPK-c seine Wirkung an dem Angriffspunkt des Leukotaxins, an der Venolenwand hat und durch deren Abdichtung eine verminderte Leukozytenemigration hervorruft. Für die erste Vermutung spricht auch die verminderte Akanthose und Hyperkeratose der Epidermis und auch das frühere Verschwinden der Leukozyten bei den Behandelten. Wahrscheinlich muß man aber beide Möglichkeiten in Betracht ziehen.

VOGEL (97) diskutiert die Möglichkeit eines "Auswascheffektes". Nach i.v. Zufuhr von GPK-c wurde im Tierversuch eine kurzfristige Steigerung der Durchblutung beobachtet. Es wäre denkbar, daß infolge der initialen Durchblutungssteigerung ein "Auswascheffekt" bezüglich der endogenen toxischen Substanzen stattfindet bzw. daß die Ernährungssituation der Zellen derart verbessert wird, daß die endogenen Toxine weniger wirksam werden.

Die elastischen Fasern sind nach 15 Stunden innerhalb des untergehenden Gewebes nur noch bruchstückhaft anfärbbar. Bei den Behandelten ist nur eine schwache Schädigung zu erkennen. Bei den Unbehandelten sind die elastischen Fasern nach 21 Stunden im oberen Korium nur noch schwach anfärbbar, während bei der Vergleichsserie die elastischen Fasern immer noch wenig verändert erscheinen. Nach 24 Stunden sind die Fasern im gesamten Korium sehr stark reduziert, auch bei den Behandelten ist die erste stärkere Schädigung zu erkennen. In diesem Stadium handelt es sich nur um den Verlust der Anfärbbarkeit, die Fasern selbst sind noch bei starker Abblendung zu erkennen. Nach 36 Stunden beginnt die Verklumpung und Rarefizierung der elastischen Fasern, die zu einem scholligen und schließlich amorphen Material zusammensintern. Erst nach 5 Tagen ist dieser Prozeß abgeschlossen. Nur um die Haarbälge herum sind die elastischen Fasern noch erhalten.

Nach dem 7. Tag sind im unteren Korium Strukturen zu beobachten, die denen der elastischen Fasern ähneln. Dieses Bild verstärkt sich immer mehr, bis nach 23 Tagen im unteren Korium ein dickerer Streifen mit diesem sehr fragmentierten Material zu finden ist. Bei der DOMAGK-Färbung sind die gleichen Bezirke gelbtingiert.

Dieses Bild ähnelt sehr der sog. aktinischen Elastose, der Elastosis senilis. Nach BAHR u. HUHN (7) sind die Elastica-Farbstoffe nicht spezifisch für das Protein Elastin. Vielmehr färben sie das interfibrilläre Kittmaterial der elastischen Fasern. Aus diesen und zahlreichen anderen histochemischen und physikalischen Befunden muß gefolgert werden, daß die elastotischen Bezirke aus chemisch ähnlichen Bausteinen zusammengesetzt sind wie das elastische Gewebe der normalen Haut (20). Auf Grund der lichtoptischen Befunde von FEYRTER u. NIEBAUER (22) besteht kein Zweifel darüber, daß die pathologischen Strukturen der degenerativen senilen Atrophie der Haut eindeutige Übergänge in die normal geformten elastischen Fasern erkennen lassen.

Da es aber kaum vorstellbar ist, daß im Rahmen einer degenerativen Atrophie das biologisch nur wenig aktive elastische Gewebe durch Proliferation derart an Masse zunimmt, wird von einigen Autoren für das Zustandekommen der aktinischen Elastose eine Degeneration und Umwandlung des kollagenen Gewebes verantwortlich gemacht (20). Die elektronenoptischen Untersuchungen von NIEBAUER u. Mitarb. (65) ergaben, daß bei der aktinischen Elastose primär eine Schädigung des kollagenen Materials vorliegt, die zum Abbau und zur Auflösung der Fasern führt. Dagegen vermuten BANFIELD u. BRINLEY (8), daß das elastotische Material vom elastischen Gewebe abstammt. NÜRNBERGER u. MILLER (66) konnten dagegen bei ihren elektronenmikroskopischen Untersuchungen bei Xeroderma pigmentosum nachweisen, daß hauptsächlich die kollagenen Fibrillen, aber auch die elastischen Fibrillen, degenerieren und somit beide Fasersysteme für die Bildung des elastotischen Materials in Frage kommen.

Die Bedeutung der Mastzelle liegt in der ungewöhnlich konzentrierten biochemischen Aktivität ihrer Granula. Ein erheblicher Teil der funktionellen Aktivierung ist mit dem Phänomen der Degranulation verknüpft, wobei es zur Freisetzung der Granula in das umgebende Gewebe kommt (53, 92, 29). Die Mastzellengranula sind Träger von Heparinverbindungen, Histamin, Serotonin und Mucopolysacchariden.

Es ist noch nicht restlos geklärt, ob das Histamin in der Zelle selbst gebildet oder nur gespeichert wird (53). Histamin wirkt auf die kleinen Gefäße und führt zu erhöhter kapillärer Durchlässigkeit und Quellung des Gewebes mit proteinreicher Flüssigkeit (71) und hat dadurch einen sehr wesentlichen Einfluß auf die Odementstehung.

Die Mucopolysaccharide haben einen starken Einfluß auf den kolloidosmotischen Druck durch die mitbewirkte Speicherung und Fixierung von extracellulärem und extravasalem Wasser (25).

Nach 8 Stunden beginnen die Mastzellen sich im rasierten Hautbezirk zahlenmäßig zu verringern. Im oberen Teil des Koriums sind nach 30 Stunden keine Mastzellen mehr vorhanden. Dagegen sind sie im behaarten Teil nach wie vor im oberen und unteren Korium zu sehen.

Auffallend ist die Beobachtung, daß bei den Behandelten im neugebildeten Gewebe die ersten Mastzellen nach 13 Tagen wieder auftauchen, bei den Unbehandelten erst am 19. Tag.

Unsere Beobachtung der Beeinflussung der Mastzellen durch GPK-c beschränkt sich nur darauf, daß die ersten Mastzellen im neugebildeten Gewebe der behandelten Versuchstiere 6 Tage früher auftauchen. Dieser Befund ist vielleicht auch mit einer Schutzwirkung des GPK-c zu erklären, indem die Wirkung der UV-Strahlen abgeschwächt wird.

Die ersten spindelfaserigen Fibroblasten sind am 5. Tag subepidermal zu finden. Die Proliferation und Reifung nimmt dann stetig zu. Bei den Behandelten ist die Proliferation stärker. Am 9. Tag beginnt die von BRAUN-FALCO (10) sog. 'Substratphase' mit der Anreicherung des Bindegewebes an sauren Mucopolysacchariden und löslichen Kollagenvorstufen. Am 11. Tag beginnt die sog. "Kollagenphase" (10) mit dem Verschwinden der sauren Mucopolysaccharide im unteren Korium, die bei den Behandelten stärker ausgebildet ist. Die "Substratphase" ist noch am 23. Tag stellenweise nachweisbar.

Die Vermutung von ASBOE u. HANSEN (4), daß die Mastzellen für die Bildung der sauren Mucopolysaccharide und besonders der Hyaluronsäure, der mesenchymalen Grundsubstanz, verantwortlich sind, haben MOORE u. SCHÖNBERG (82) durch histochemische und histoenzymatische Untersuchungen widerlegt, indem sie zeigten, daß in Mastzellen hyaluronsäureähnliche Substanzen oder Vorstufen, wie sie in den Fibroblasten gefunden werden, nicht faßbar sind. Auch ein Versuch von FISCHER (23) spricht gegen diese Theorie. Demnach bilden die Fibroblasten außer Kollagen auch Mucopolysaccharide.

Die Mucopolysaccharide sind nur Aufbauelemente für eine hochdifferenzierte, teils stärker teils schwächer geformte Grundstruktur, welche ihrerseits die vornehmlichen Leistungen übernimmt. Die Bedeutung der Hyaluron- und Chondroitinschwefelsäure liegt wohl zunächst darin, daß sie der mesenchymalen Grundsubstanz ein hohes Maß an Quellbarkeit,

Elastizität und Viskosität verleihen, so daß diese ihre Funktion als Füllstoff und Kitt zwischen den zellulären und faserigen Bestandteilen des Bindegewebes erfüllen kann. Dadurch haben die extrazellulären Mucopolysaccharide einen Einfluß auf den kolloidosmotischen Druck durch die mitbewirkte Speicherung und Fixierung von extrazellulärem und extravasalem Wasser. Die Mucopolysaccharide beeinflussen auch die Bindegewebsbarriere und damit die Durchflutung des Gewebes.

Die Mucopolysaccharide werden durch das Verhältnis zu den Mucopolysaccharidasen in einer physiologischen Konzentration gehalten. Die Erhöhung der Hyaluronidasenkonzentration durch einen Reiz führt zu einer erhöhten Permeabilität der Membranen und damit zu einer Förderung der Diffusion in das Gewebe und schließlich zum Ödem. Die Durchlässigkeit der Kapillarwand wird durch ihre Hauptelemente, die Endothelzellen, den zwischen diesen lagernden Kitt und die äußere perikapilläre Scheide, wesentlich bestimmt. Aber nur die letztere scheint hyaluronidaseempfindliche Zellen zu enthalten (25).

Von den Fibroblasten des rasch sich bildenden Granulationsgewebes werden zunächst schwach saure oder neutrale (PAS-reaktive) Mucopolysaccharide als Vorstufen in den extrazellulären Raum abgegeben, die erst dann einem Sulfatierungsprozeß unterliegen (95, 101). Diese Untersuchungen stimmen mit der Beobachtung überein, daß das Verhältnis von Hyaluronsäure zu Chondroitinschwefelsäure mit zunehmender Kollagenfaserbildung abnimmt (98). Es ist wahrscheinlich, daß die sauren Mucopolysaccharide, vor allem sulfatierte, mit basischen Proteingruppen von Retikulin, Präkollagen und Kollagen reagieren, d.h. die sulfatierten Verbindungen verschwinden nicht, sondern werden nur so chemisch maskiert, daß sie einem histochemischen Nachweis nicht mehr zugänglich sind (41). Es hat den Anschein, daß etwa in Analogie zur Nukleinsäuresynthese das Ladungsmuster der sulfatierten Mucopolysaccharide als Matrize dient, die bei der Bildung von Kollagen die Micellen des Präkollagens orientiert (41).

Die Anwesenheit saurer Mucopolysaccharide scheint also demnach für die Faserbildung von größter Wichtigkeit zu sein (89).

Die Exoplasmatheorie STUDNICKS, nach der Fibrillen und Fasern an der Oberfläche der Fibroblasten durch Umwandlung des Cytoplasmas entstehen würden, ist heute widerlegt. Nach BAHR (6) können sie sich in Gewebekulturen auch in größerer Entfernung der Fibroblasten bilden. Für die Bildung sind die Mucopolysaccharide notwendig.

Auch liefern die Fibroblasten die Grundsubstanz für die elastischen Fasern, da auffallend ist, daß elastische Fasern nur in Gewebekulturen entstehen, die auch kollagene Fasern enthalten (10). Andererseits existiert eine Reihe von Anhaltspunkten, die eine Entstehung durch Umwandlung von Kollagen zu Elastin vermuten lassen. HALL (33) ist der Meinung, daß Elastin einmal aus chemischen Zwischenstufen im Kollagenaufbau und andererseits aus Teilprodukten im Verlauf degenerativer Vorgänge am Kollagen aufgebaut werden könnte. Kollagen scheint demnach ein Prärequisit für die Elastica-bildung zu sein (73). Daß die sauren Mucopolysaccharide auch bei der Neubildung von elastischen Fasern bedeutsam sind, geht aus der gleichzeitigen Anwesenheit von metachromasiegebenden Substanzen deutlich hervor (73). In heilenden Wunden erscheinen elastische Fasern erst relativ spät, d.h. erst gegen Abschluß der Neubildung kollagener Fasern und meist sehr rudimentär (3).

Bei den mit GPK-c behandelten Versuchstieren ist der Befund zu erheben, daß die Fibroblastenproliferation viel stärker ausgebildet ist und dadurch auch die Kollagenphase am 11.Tag.

Schon nach 2 Stunden war ein stärkeres Ödem in der Subcutis und ein schwächeres Ödem im Korium zu erkennen. Bei der behandelten Vergleichsserie ist eine deutlich geringere Ödementwicklung zu beobachten. Auch durch die folgenden Versuchsserien, die zu den späteren Zeitpunkten getötet wurden, ist diese Beobachtung, die nur geringe Ausnahmen enthält, erhärtet worden.

Von ausschlaggebender Bedeutung für die Entstehung des Ödems ist neben dem Histamin (71) eine Störung im Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System (14, 12, 49, 13, 40, 16, 87). STARY u. TEKMANN (87) nehmen an, daß die Hyaluronidase in den Blut- und interzellulären Lymphwegen in einer bestimmten gleichmäßigen Konzentration vorhanden ist und die überschüssigen Mengen von Hyaluronsäure, welche die interzelluläre und interfibrilläre Gele der Gewebe bildet, zur Lösung bringt. Bei einem vermehrten auftreten von Hyaluronidase nach einem Reiz, wie zum Beispiel nach einer UV-Bestrahlung, wird hierdurch die Viskosität der Interzellulärsubstanz soweit gemindert, daß die Gewebsspermeabilität erhöht und für die Diffusion bestimmter Stoffe geebnet ist. Nicht nur die Permeabilität der Gewebe, sondern auch die der Gefäßwände sind durch die Einwirkung der Hyaluronidase gesteigert. Es beruht dies wahrscheinlich auf dem Vorhandensein einer für Protein nicht durchlässigen Polysaccharidschicht, welche als Filter zwischen die eigentliche Gefäßwand und das interstitielle Gewebe gesetzt ist. Die Hyaluronidase kann diese perikapilläre Schicht aufspalten und verflüssigen, so daß die Kapillarwand nunmehr auch für die Eiweißmoleküle durchlässig wird (25, 87).

Histamin dagegen wirkt nicht auf die perikapilläre Schicht, sondern bewirkt eine interendotheliale Öffnung und führt dadurch auch zu einer erhöhten kapillären Durchlässigkeit und Quellung des Gewebes mit proteinreicher Flüssigkeit (71). Das Histamin entstammt hauptsächlich den Mastzellengranula. Man weiß aber aus Reagenzglasversuchen, daß der Eiweißbaustein Histidin durch UV-Bestrahlung in Histamin umgewandelt wird. In der Haut ist das Histidin aber in nur sehr geringer Menge vertreten (58). Dieses Histamin muß für die Frühreaktion der Gefäße verantwortlich gemacht werden, denn im Blut läßt es sich bereits während der Bestrahlung nachweisen (67).

Wie sich die Gefäßwand im Stadium der Liquordiapese regulativ zu verändern vermag, haben MAJNO u. PALADE (54) in einer elektronenmikroskopischen Studie dargelegt.

Ihren Abbildungen ist zu entnehmen, daß unter dem Einfluß von subcutan appliziertem Histamin und Serotonin in den Gefäßen des Musculus cremaster der Ratte endotheliale Öffnungen von 0,1-0,8 μ entstehen. Diese Öffnungen können mit ziemlicher Sicherheit in den Bereich der interendothelialen Verbindungen lokalisiert werden. Es gibt auch einen interendothelialen Flüssigkeitsaustritt.

MAJNO u. PALADE (54) sind der Meinung, daß unter dem Einfluß von Histamin zwei Mechanismen entstehen:

1. Eine Endothelfenestration in der Wand der kleinsten Gefäße vom Typ der Papillarkapillaren. 2. Eine Sprengung der Interzellularfugen in der Wand der größeren Gefäße vom Typ der subpapillären Venen. Sehr auffällig ist aber, daß das Durchtrittsmaximum an den Venolen zu beobachten ist, an einem Ort also, an dem der hydrostatische Druck erwiesenermaßen geringer als in den Kapillaren ist. MAJNO u. PALADE konnten ebenso wie vorher schon MARCHESI u. FIOREY (55) zeigen, daß die interendothelialen Durchtrittsöffnungen nur an den größeren Kapillaren oder Venolen von 7-8 μ zu beobachten sind, während die kleinsten Gefäße von 3-5 μ Durchmesser morphologisch intakt bleiben.

Der Liquordiapapedese folgt die Serumdiapedese, da nun auch die niedermolekularen Eiweißkörper des Blutes, Albumine und Globuline, die Gefäße verlassen. Es folgt die Plasmadiapedese, indem auch das grobdisperse Fibrinogen durch die Gefäße in das Gewebe austritt (52).

Unter der Wirkung des GPK-c ist eine deutlich geringere Odementwicklung zu beobachten. Es ist möglich, daß durch das GPK-c eine geringere Menge an Histamin und Hyaluronidase freigesetzt wird. Wahrscheinlicher aber ist die Vermutung, daß der Angriffspunkt von GPK-c an den Wänden der kleinen Gefäße zu suchen ist, denn sowohl das Histamin wie die Hyaluronidase haben dort einen Angriffspunkt.

GPK-c vermag also die kapillar- und Venolenwand zu beeinflussen. Diese Beobachtung stimmt auch mit der Mitteilung von VOGEL (97) überein, daß der Hauptanteil der prophylaktischen und therapeutischen Wirksamkeit des GPK-c

eine Beeinflussung der Kapillarpermeabilität darstellt und dadurch die durch Histamin vergrößerten Membranporen wieder normalisiert werden. Dabei wirkt GPK-c aber nicht als ein Antihistaminicum in dem Sinne, daß es die Substanz Histamin antagonisiert, sondern GPK-c wirkt als ein funktioneller Histamin-Antagonist. Vielleicht tritt auch die von VOGEL diskutierte Möglichkeit des "Auswascheffektes" hinzu, so daß das Histamin und toxische Substanzen nur teilweise zur Auswirkung kommen.

X. Zusammenfassung

Diese tierexperimentelle Arbeit beschreibt die akute Licht-entzündung an der Rückenhaut der weißen Maus und ihre Beeinflussung durch einen Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten, das GPK-c.

104 männliche Albinomäuse, denen ein 1 cm² großes Hautstück auf dem Rücken freirasiert worden war, wurden einem Strahlenquantum des UV-Lichtes, das von einem Quecksilber-Hochdruckbrenner vom Typ 2 600 der Quarzlampengesellschaft Hanau erzeugt wurde, ausgesetzt (30 Min. = 20 fache Dosis der mittleren Erythemschwelle), das gerade ausreichte, um eine Nekrose bis in das Korium zu erzeugen. Die eine Serie war unbehandelt, den Versuchstieren der anderen Serie wurde einmal vor und dreimal nach der Bestrahlung GPK-c in die Schwanzvene injiziert. Die Dosis betrug 0,02 mg GPK-c/Gramm der Versuchsmaus. Die Konzentration betrug 0,8 mg GPK-c/ml. Die Zeitpunkte der Tötung nach der Bestrahlung waren so gewählt, daß der Entzündungsablauf möglichst vollständig darstellbar war. Die erste Serie wurde 2 Stunden nach der Bestrahlung, die letzte am 23. Tag getötet. Die rasierte und bestrahlte Haut wurde im Bereich der maximalen Hautläsion exzidiert und histologisch untersucht.

Bei dem Vergleich des Entzündungsablaufs, der in einer Nekrose des oberen Koriums endete, war bei der mit GPK-c behandelten Versuchsserie im Gegensatz zu den unbehandelten folgende Beobachtung zu machen:

1. Die Stärke des Ödems war wesentlich geringer.
2. Die Granulozytenzahl war deutlich verringert.
3. Am 19. Tag waren keine Granulozyten mehr zu beobachten, bei den Unbehandelten erst am 23. Tag.
4. Die Akanthose war schwächer ausgebildet, so daß auch nach dem allgemeinen Rückgang der Akanthose sie am 23. Tag um 1 - 2 Schichten flacher ausgebildet war.
5. Auch das Stratum corneum hatte am 23. Tag 1 - 2 Hornlagen weniger.
6. Die Degeneration der Epidermis begann nach 30 Stunden, bei den Unbehandelten schon nach 21 Stunden.
7. Die Regeneration der Epidermis begann am 4. Tag, bei den Unbehandelten schon am 3. Tag.
8. Die Epitheldecke war am 9. Tag geschlossen, bei den Unbehandelten schon am 7. Tag.
9. Die Fibroblastenproliferation war stärker ausgebildet.
10. Die erste stärkere Elasticaschädigung trat nach 24 Stunden auf, bei den Unbehandelten schon nach 15 Stunden.
11. Die ersten Mastzellen erschienen im neugebildeten Gewebe am 13. Tag, bei den Unbehandelten erst am 19. Tag.

GPK-c scheint eine gewisse Schutzwirkung in dem von UV-Licht bestrahlten Hautgebiet zu entfalten. Der Hauptanteil der Wirkung liegt wahrscheinlich in der Steigerung der Kapillarresistenz.

1. ADLER, I., Über die Lichtwirkung auf überlebende glatt-muskelige Organe. Arch.exp.Path.Pharm. 85, 152-175 (1920)
2. ARZT, L., Zur Pathologie des elastischen Gewebes der Haut. Arch.Dermat.Syph. (Wien) 118, 465-551 (1913)
3. ASBOE-HANSEN, G. Connective tissue in health and disease. Copenhagen 1954
4. AUSLEGESCHRIFT des deutschen Patentamtes Nr. 1 233 095 (1965)
Anmelder: Dr. Madaus & Co., Köln-Merheim
Verfahren zur Gewinnung eines antiinflammatorisch wirksamen Produktes aus Citrus-Früchten.
5. BABUCKE, J., Zur Beeinflussung des ultraviolettlicht-Erythems der nicht sensibilisierten weißen Ratte. Med.Dissert. Mainz 1950
6. BÄHR, F.G., The reconstitution of collagen fibrils as revealed by electronmicroscopy. Exp.Cell.Res. 1, 603-638 (1950)
7. BÄHR, F.G. u. K.H. HUHN, Über den Einfluß der Kittsubstanzen bei der Färbung des kollagenen und elastischen Gewebes. Arch.Dermat.Syph. (Berlin) 194, 400-404 (1952)
8. BANFIELD, W.G. u. D.C. BRINLEY, Preliminary observations on senile elastosis using the electronmicroscope, J.invest.Dermat. 41, 9-17 (1963)
9. BECKER, S.M., Histologic changes in human skin following psoralen therapie. J.invest.Dermat. 32, 269-271 (1959)
10. BRAUN-FALCO, O., Pathologische Veränderungen an der Grundsubstanz, Kollagen und Elastika. In: Handbuch der Haut und Geschlechtskrankheiten, hrsg.von L.Jadassohn, Erg.Bd. 1, 2, 519-628, Berlin 1964
11. BRAUN-FALCO, O., Über das Wesen der senilen Elastosis. Dermat.Wschr. 134, 538-554 (1952)
12. BRENNAN, G.J., Contribution to the study of pemphigus. Arch.Dermat.Syph. (Chic.) 68, 481-498 (1953)
13. McCARDLE, R.C., J.P. PAUMBERGER u. W.C. HEROLD, Histochemistry of pemphigus lesions with special reference to bullous formation. Arch.Dermat.Syph.(Chic.) 47, 517-545 (1943)
14. CIVATTE, A., Diagnostic histopathologique de la dermatite polymorphe douloureuse ou maladie de Duhring-Brocq. Ann.dermat.syph. (Paris) VIII 3, 1-30 (1943)

15. COCKERELL, E., Changes after prolonged exposure to sunlight:
A studie of factors influencing actinic degeneration.
Arch.Dermat.Syph. 84, 467-472 (1961)
16. COOK, M.J. The anatomy of the laboratory mouse. London 1965
17. DANIELS, F., Histochemical responses of human skin following
ultraviolett irridation. J.invest.Dermat. 37, 351-357 (1961)
18. DÜKER, M., Untersuchungen mit permeabilitätssteigernden und
hemmenden Stoffen an der Hämatoporphyrin vorbehandelten
weißen Maus. Med. Dissert. Mainz 1951
19. DUNPHY, J.E. u. K.N. UDUPA, Chemical and histochemical se-
quenses in the normal healing of wounds, New Engl. J.
Med. 253, 847-851 (1955)
20. EBERHARTINGER, Ch., H. EBNER u. G. NIEBAUER, Ablagerung und
Speicherung in der Cutis. In: Handbuch der Haut und Ge-
schlechtskrankheiten, hrsg.von I.Jadassohn, Erg.Bd. 1,2,
862-901, Berlin 1964
21. FELDBERG, w., Reduction of tissue Histamine by compound 48/80
J.Physiol. 120, 550-568 (1953)
22. FEYRTER, F. u. G. NIEBAUER, Zur Frage der degenerativen senilen
Atrophie der Haut. Med.Wschr. 152, 1176-1185 (1966)
23. FISCHER, E.K. u. H.R. HELLSTRON, Effect of mastcell depletion
on wound healing. J.Investig.Dermat. (Baltimore), 189-
191 (1961), 36
24. GASSUI, R. zitiert nach Ph. KEILER (42)
25. GIBIAN, H., Mucopolysaccharide und Mucopolysaccharidasen.
Wien 1959
26. GÖDAN, R., Die Wirkungen eines Glykopeptidkomplexes aus Citrus-
früchten auf die ultraviolett bedingte Ohrnekrose der
nicht photosensibilisierten weißen Maus. Med.Dissert.
Mainz 1969
27. GOTTLIEB, B. u. R.K. WINKELMANN, Lymphocytic infiltration of
skin. Arch.Dermat.Syph.(Chic.) 86, 626-633 (1962)
28. GREEN, L.E., Biology of the laboratory mouse, New York 1966
29. GUSEK, W., Elektronenoptische Untersuchungen über die Ultra-
struktur von Mastzellen. Arch.klin.exp.Dermat. 213,
573-581 (1961)
30. GUSEK, W., Neuere Erkenntnisse zur Morphologie der örtlichen
Entzündung. Med.Welt (Berlin) 2665-2669 (1960)

31. GUSEK, W., Submikroskopische Untersuchungen zur Feinstruktur aktiver Bindegewebszellen. Stuttg. 1962
32. HAGEMANN, E. u. G. SCHMIDT, Ratte und Maus. Berlin 1960
33. HALL, D.A., Collagen and elastin in connective tissue. J. Geront. 10, 388-400 (1955)
34. HAMPERL, H. u. U. HENSCHKE, Über den Primärvorgang bei der Erythemerzeugung durch UV-Strahlen. Naturwiss. 27, 563-566 (1939)
35. HAUSSER, K.W., Einfluß der Wellenlänge in der Strahlenbiologie. Strahlenth. 28, 25-44 (1928)
36. HEILMEYER, L., Lehrbuch der speziellen pathologischen Physiologie. Stuttg. 1968
37. HIERONYMI, E., Pathologie der Laboratoriumstiere. Berlin 1958
38. HÖFLING, O., Lehrbuch der Physik. Bonn 1966
39. HOFFMANN, G., Kurzer Abriß der Anatomie und Physiologie der Laboratoriumstiere. Jena 1956
40. HOLZER, I., Über den Einfluß der Hyaluronidase auf die Erythemmentstehung. Med. Dissert. Mainz 1953
41. JACKSON, D.S., Chondroitin sulphuric acid as a factor in the stability of tendon. Biochem. J. (London) 54, 638-641 (1953)
42. KELLER, Ph., Über die Wirkung des ultravioletten Lichtes auf die Haut unter bes. Berücksichtigung der Dosierung. Strahlenth. 16, 536-553 (1924)
43. KORTING, G.W. u. NÜRNBERGER, F., Klinischer Prüfungsbericht vom 6.10.1967 an die Firma Dr.Madaus & Co., Köln-Merheim
44. KNAPP, E., A. REU, O. RISSE u. H. SCHREIBER, Quantitative analyse der mutationsauslösenden Wirkung monochromatischen Lichtes. Naturwiss. 27, 309-318 (1939)
45. LAMB, J.H. u. B. SHELLMIRE, Solar dermatitis. Arch.Dermat.Syph.(Chic.) 67, 369-379 (1953)
46. LAMB, J.H., P. JONES u. T.B. MAXWELL, Solar dermatitis. Arch.Dermat.Syph. (Chic.) 75, 171-180 (1957)
47. LETTERER, E., Allgemeine Pathologie. Stuttg. 1959
48. LEVER, F.W., Histopathology of the skin. Philadelphia 1967
49. LEVER, F.W., Pemphigus. A histopathologic study. Arch.Dermat.Syph. (Chic.) 64, 727-753 (1951)
50. LINDNER, J. Die Mastzelle. Arch.klin.exp.Dermat.213, 588-606 (1961)

51. LIPSON, R.L., Histamine and photodynamic action .
Arch.Dermat.Syph. 83, 417-419 (1961)
52. MACHER, E., Die gestörte Durchströmung der Haut. In: Hand-
buch der Haut u. Geschlechtskrankheiten, hrsg. von
I. Jadassohn. Erg.Bd. 1,2, 416-468, Berlin 1964
53. MACHER, E., Das entzündliche Hautinfiltrat. In: Handbuch
der Haut u. Geschlechtskrankheiten, hrsg. von I.
Jadassohn, Erg.Bd. 1,2, 473-513, Berlin 1964
54. MAJNO, G. u. G.E. PALADE, Studies on inflammation. The effect
of histamine and serotonin on vascular permeability.
J.biophys.biochem.Cytol. 11, 571-586 (1961)
55. MARCHESI, V.T. u. H.W. FLOREY, Elektron micrographic ob-
servations on the emigration of leucocytes.
J.Exper.Physiol. 45, 343-362 (1960)
56. MENKIN, V., Factors concerned in the mobilization of leukocytes
in inflammation. Acad. Sci. 59, 956-985 (1955)
57. METSCHNIKOFF, E., Bericht über die im Laufe des letzten
Dezeniums erlangten Fortschritte in der Lehre über
die Immunität bei Infektionskrankheiten, mit besonderer
Berücksichtigung der Zellenlehre.
Ergebn. Allg. Path.Anat. 11, 645-689 (1906)
58. MEYER, A.E. u. E. SEITZ, UV Strahlen. Ihre Erzeugung, Messung
und Anwendung in Medizin, Biologie und Technik.
Berlin 1949
59. MIESCHER, G., Zur Histologie der lichtbedingten Reaktionen.
Strahlenth. 115, 345-357 (1957)
60. MIESCHER, G. u. E. HARDMEYER, Über die Wirkung des weißen
und infraroten Lichtes auf die Haut.
Arch.Dermat.Syph. (Berl.) 174, 445-463 (1936)
61. MIESCHER, G., Das Problem des Lichtschutzes und der Licht-
gewöhnung. Strahlenth. 35, 403-443 (1930)
62. MÖLLENDORF, M.v., Die Wirkung der künstlichen Höhensonnen-
bestrahlung auf das subcutane Bindegewebe der weißen
Maus. Z.Zellforsch. 6, 151-195 (1928)
63. MONTGOMERY, H., Dermatopathologie. Burns and actino-
dermatitis. New York (1967)
64. MORGAN, R.J., Unusual forms of solar dermatitis.
Arch.Dermat.Syph. (Chic.) 67, 369-379 (1953)

65. NIEBAUER, G. u. L. STOCKINGER, Über die senile Elastosis.
Arch.klin.exp.Dermat. 221, 122-143 (1965)
66. NÜRNBERGER, F. u. G. MÜLLER, Xeroderma pigmentosum: eliciting spectral wavelengths, light and electron microscopical studies. 5th Intern. Congress of photobiology. 15. bis 20. August 1968. Hanover, New Hampshire, USA
67. OTTLENGHI-LODIGIANI, F., Il comportamento dell'istaminia nella cute e nel sangue dell'uomo dopo stimolazione delle pelle con raggi ultravioletti. (Das Verhalten des Histamins in der menschlichen Haut und im Blut nach der Hautreizung mit UV.) G.ital.Dermat. 83, 375-393 (1942)
68. RAEEKALLIO, J., Histochemie des heilenden Bindegewebes.
Acta histochem. 106-117 (1964)
69. RAJEWSKY, B., Die Strahlungsreaktion des Eiweißes und die Erythemwirkung. Strahlenth. 29, 759-772 (1928)
70. RAJEWSKY, B., Die Wirkung der kurzwelligen Strahlen auf Eiweißkörper. Biochem.Z. 227, 272-285 (1930)
71. REMY, D., Die Physiologie der Mastzellen. Arch.klin.exp. Dermat. 213, 545-555 (1961)
72. RILEY, J., Histamine liberation in rat and mouse.
Arch.internat.pharmakodyn. 102, 304-313 (1955)
73. ROBB-SMITH, A.H., The functional significance of connective tissue. Lect.sci.Basis Med. 2, 77-86 (1952/53)
74. ROMBEIS, B., Mikroskopische Technik. 16. Aufl. München-Wien 1968
75. ROST, G.A. u. Ph. KELJER, Licht, Röntgen und Radium Elektrophotherapie. In: Handb. der Haut und Geschlechtskrankheiten, hrsg. von I. Jadassohn, Bd. 5,2, 1-110, Berlin 1929
76. ROST, G.A., Die biologischen Grundlagen der Ultraviolettherapie. Strahlenth. 19, 1-23 (1924)
77. SAMS, W.M. u. J.G. SMITH, The histochemistry of chronically sun-damaged skin: An investigation of mucopolysaccharides and basophilia in actinically damaged skin using Alcian Blue, Mowry's and Hicks-Matthaei stains, methylation, and sap saponification. J.Invest.Dermat. 37, 447-453 (1961)
78. SCHALL, L. u. H.J. ALIUS, Zur Messung der Hautreaktion Strahlenth. 19, 796-804 (1925)

79. SCHALL, L. u. J.H. ALIUS, Zur Frage der Dosimetrie des UV-Lichtes. Strahlenth. 19, 559-573 (1925)
80. SCHELLIN zitiert bei L. HEILMEYER (36)
81. SCHELLINGER zitiert bei L. HEILMEYER (36)
82. SCHOENBERG, K.D. u. K.D. MOORE, Studies on connective tissue. Enzymatic studies on the formation and nature of the carbohydrate intermediate of the connective tissue polysaccharides in the human umbilical cord. Arch.Path. 65, 115-134 (1953)
83. SCHUR u. NIEKAU zitiert bei MEYER u. SEITZ (58)
84. SONNE, G., Die Abhängigkeit der lichtbiologischen Reaktion von der Wellenlänge. Strahlenth. 28, 45-51 (1928)
85. SPECTOR, W.G., Activation of a globulin system controlling capillary permeability in inflammation. J.Path.Bact. 73, 133-139 (1957)
86. SPECTOR, W.G., u. D.A. WILLUGHBY, Capillary permeability factors, nucleosides and histamine release. J.Path. Bact. 73, 133-139 (1957)
87. STARY, A. u. H. TEKMAN, Der Einfluß der Hyaluronidase. Münchner med. Wschr. 30/31, 1511-1524 (1951)
88. STEIGLEDER, G.K. u. O. JAMES, Pathologische Reaktionen in der Epidermis. In: Handb. der Haut u. Geschlechtskrankheiten, hrsg. von I. Jadassohn, Erg.Bd. 1,2, 178-246, Berlin 1964
89. STEIN, O. u. M. WOLMAN, A histochemical study of wound healing in scorbutic pigs. Brit.J.exp.Path. 39, 417-432 (1958)
90. STEINER, K., Lucis substances and cutaneous connective tissue in dermatose. J.invest.Dermat. 28, 403-418 (1953)
91. STOCKINGER, W., Das lockere Bindegewebe der weißen Maus in verschiedenen Lebensalterstufen, mit besonderer Berücksichtigung der Mastzellen und der Gewebsleukozyten. Zschr. Zellforsch. (Berlin) 6, 27-61 (1928)
92. STOECKENIUS, W., Zur Feinstruktur der Granula menschlicher Gewebsmastzellen. Exp.Cell.Res. 11, 656-668 (1956)
93. TAYLOR, H.E. u. A.M. SAUNDERS, The association of metachromatic ground substance with fibroblastic activity in granulation tissue. Amer.J.Path. 33, 525-538 (1957)

94. ÜBEL zitiert bei M. WIEDEMANN (99)
95. UPTON, A.C. u. T.T. ODELL jr., Utilization of S³⁵-labeled sulfate in scorbutic Guinea pigs: Uptake in healing wounds, megacaryocytes and blood platels. Arch.Path. 62, 194-199 (1956)
96. VEIEL, E., Über einen Fall von Eczema solare. Arch.Dermat. Syph. (Wien) 19,2, 1113-1116 (1887)
97. VOGEL, G., Schriftliche Mitteilung vom 21.4.1969 an die Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität.
98. WATSON, E.M. u. R.H. PEARCE, The mucopolysaccharides content of the skin in localized myxedema. Amer.J.Clin.Path. 17, 507-512 (1947)
99. WIEDEMANN, M., Experimentelle und histologische Untersuchungen zur Auslösung der letalen Photosensibilisierung an der weißen Maus und ihrer Beeinflussung durch einen neuen Glyko-Peptid-Komplex (GPK-c) aus Citrusfrüchten. Med. Dissert. Mainz 1969
100. WINER, I.H., Elastic fibers in unusual dermatoses. Arch.Dermat.Syph. (Chic.) 71, 338-348 (1955)
101. WINDRUM, G.M. u. H. KRAIER, Some observations on the histochemical reactions of amyloid. Arch.Path. 63, 373-392 (1957)
102. WOTERS, H. Diskussionsbemerkung Eczema solare. Erg.H.z. Arch.Dermat.Syph. (Wien) 24, 187-193 (1892)
103. WRIGHT, E.T. u. I.H. WINER, Histopathology of allergic solar dermatitis. J.Invest.Dermat. 34, 103-106 (1960)
104. ZAMECHNIK, P.C., M.L. STEPHENSON u. O. CORE, Peptidase activity of lymph and serum after burns. J.Biol.Chem. 158, 135-144 (1945)
105. ZIEDEMANN, M.C., Histologic changes in irradiated skin, after ingestion of 8-methoxypsoralen. J.Invest.Dermat. 32, 269-271 (1959)
106. ZOLLINGER, H.U., Pathologische Anatomie. Bd. I, Stuttg. 1968

Herrn Professor Dr. G.W.Korting danke ich für die Überlassung des Themas.

Ich danke Herrn Dr. F. Nürnberger für die wissenschaftliche Überwachung der Versuche und für die Hilfe bei der Auswertung der histologischen Präparate.

Frau R. Vinson danke ich für die Einführung in die praktische Histologie.

LEBENS LAUF

Ich, Reinhold Wünstel, wurde am 28.3.1946 in Wiesbaden als Sohn des Ehepaares Dr.med. Georg Wünstel und seiner Ehefrau Lieselotte, geb. Ebert, geboren.

Von 1952 bis 1956 besuchte ich die Volksschule in Mainz-Zahlbach. Im Jahre 1956 wurde ich in dem humanistischen Habanus Maurus-Gymnasium aufgenommen. Dort absolvierte ich 1966 die Reifeprüfung. Im Sommersemester 1966 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz für das Medizinstudium. Nach dem 5.Semester bestand ich am 30.9. 1968 die ärztliche Vorprüfung.

